·基础研究·

# 鹿茸复方对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢和骨钙磷含量的影响△

王雪华[1]，赵海平[2]，孙伟丽[2]，姚梦杰[2]，李春义[2*]，李海涛[1*]

1. 南京中医药大学 药学院，江苏　南京　210023；2. 中国农业科学院 特产研究所，吉林　长春　130112

［摘要］　**目的：**观察鹿茸复方对去卵巢大鼠骨质疏松的影响。**方法：**摘除雌性 Wistar 大鼠卵巢构建去势大鼠骨质疏松模型，将造模成功的 24 只大鼠随机分为 3 组：雌激素组（E2 组），模型组（OVX 组）和鹿茸复方组（F 组）；另取 8 只手术但不去势的大鼠为假手术组（Sham 组）；共 4 组（$n=8$）。分别给予相应的药物灌胃，连续给药 12 周，处死。然后称量各组大鼠的体质量、子宫质量和股骨质量；ELISA 试剂盒检测各组血清中碱性磷酸酶（ALP）、骨形成蛋白（BGP）、甲状旁腺激素（PTH）和降钙素（CT）的含量；原子吸收法测定血清钙（Ca）和血清磷（P）的含量；取左侧股骨灰化，称质量，计算灰分；EDTA 法检测骨钙含量，钒钼酸铵法检测骨磷的含量；对右侧股骨进行 HE 染色，观察骨组织形态和结构，计算切片内骨小梁面积比值。**结果：**与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的子宫质量、脏器比值、血清 CT 和 Ca 含量、骨钙和骨磷含量、骨小梁面积比均明显降低；血清 ALP、BGP、PTH、P 含量和大鼠体质量增值率均显著升高。与 OVX 组比较，E2 组大鼠血清 BGP、PTH、P 含量均明显降低，子宫质量和脏器比值、骨钙和骨磷含量、骨小梁面积比值均显著升高；F 组大鼠的血清 ALP、BGP、PTH、P 含量和大鼠体质量增值率均明显降低，血清 CT、子宫质量和脏器比值、股骨质量均有显著升高。与 E2 组比较，F 组大鼠的股骨质量和血清 CT 均明显升高；血清 ALP、BGP、PTH、P 含量、子宫质量、脏器比值、大鼠体质量增值率、骨小梁面积比值显著降低。**结论：**以鹿茸为君药的复方可以有效通过调节大鼠体内激素分泌改善去卵巢大鼠的骨代谢异常，抑制去卵巢大鼠骨钙和骨磷矿物质含量的流失，逆转骨组织病理状态，对骨质疏松症起到一定的防治作用。

［关键词］　骨质疏松；鹿茸；鹿血；煅牡蛎；骨代谢

［中图分类号］　R289；R285.5　　［文献标识码］　A　　［文章编号］　1673-4890（2019）05-0583-07

**doi**：10.13313/j.issn.1673-4890.20181216001

## Effect of Deer Antler Compound on Bone Metabolism and Osteocalcin Content in Ovariectomized Osteoporosis Rats

WANG Xue-hua[1], ZHAO Hai-ping[2], SUN Wei-li[2], YAO Meng-jie[2], LI Chun-yi[2*], LI Hai-tao[1*]

1. *College of Pharmacy*, *Nanjing University of Chinese Medicine*, *Nanjing* 210023, *China*;

2. *Institute of Special Animal and Plant Sciences of CAAS*, *Changchun* 130112, *China*

［**Abstract**］　**Objective**: To observe the effect of antler compound on osteoporosis in ovariectomized rats. **Methods**: The osteoporosis model of ovariectomized rats was established by removing the ovary of female Wistar rats. The 24 successfully modeled rats were randomly divided into 3 groups: estrogen group (E2 group), model group (OVX group) and antler compound. Group (F group) of 8 rats with surgery but not castrated were sham operation group (Sham group); A total of 4 groups ($n=8$). The corresponding drugs were administered intragastrically, and were administered continuously for 12 weeks and sacrificed. The body weight, uterine weight and femur weight of each group of rats were then weighed. An ELISA kit was used to detect alkaline phosphatase (ALP), bone morphogenetic protein (BGP), parathyroid hormone (PTH) and calcitonin in each group. (CT) content; determination of serum calcium (Ca) and serum phosphorus (P) by atomic absorption method; taking the left femur ashing, weighing, calculating ash weight; EDTA method for detecting bone calcium content, vanadium and molybdenum method was used to detect the content of bone phosphorus; HE staining was performed on the right femur, bone

△［基金项目］　吉林省科技发展计划项目（20190304006YY）

*［通信作者］　李海涛，教授，博士生导师，研究方向：药理学；E-mail：lihaitao0003@sina.com

李春义，研究员，博士生导师，研究方向：鹿茸干细胞与组织器官再生；E-mail：lichunyi1959@163.com

morphology and structure were observed, and the ratio of trabecular area in the section was calculated. **Results**: Compared with Sham group, the uterus weight, organ ratio, serum CT, Ca, Ca content in femurs, P content in femurs and trabecular bone area ratio of OVX group decreased significantly, serum ALP, BGP, PTH, P content and the weight gain rate of rats increased significantly. Compared with OVX group, serum BGP, PTH and P levels in E2 group decreased significantly, uterine weight and organ ratio, Ca content infemurs, P content in femurs, and trabecular bone area ratio increased significantly, serum of group F rats ALP, BGP, PTH, P content and rat weight gain rate reduced significantly, serum CT, uterine weight and organ ratio, femur weight increased significantly. Compared with the E2 group, the femur weight and serum CT of the F group increased significantly, serum ALP, BGP, PTH, P content, uterine weight, organ ratio, and rat weight gain rate trabecular bone area ratio decreased significantly. **Conclusion**: The compound of antler as a medicinal herb can effectively regulates the hormone secretion in rats, improves the abnormal bone metabolism in ovariectomized rats, inhibits the loss of Ca and P content in femurs in ovariectomized rats, and reverses the pathological changes of bone tissue, and plays a certain role in prevention and treatment of osteoporosis.

[**Keywords**]　osteoporosis; antler; deer blood; calcined oyster; bone metabolism

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以全身骨量减少、骨密度损失及骨组织微观结构退化为特征，并引起骨强度降低、骨脆性增加、骨折危险性增大的全身代谢性疾病[1]。临床以周身疼痛、身高降低、驼背、脆性骨折及呼吸系统受影响等为主要表现[2]。原发性骨质疏松症属于高转换型骨质疏松症，常发于老年人及绝经后妇女[3]。中医理论中依据其临床症状及病因病机，多将其归属为“骨痿”的范畴，临床普遍认同肾虚是主要病机，肝脾不足、血瘀痰浊等也与之密切相关[4]。由于原发性骨质疏松症属于发病率高的慢性疾病，所以保健费用消耗比较大，并且严重影响老年人的健康和生活质量，已经成为一个世界范围的健康问题。

鹿茸为鹿科动物马鹿 *Cervuselaphus Linnaeus* 和梅花鹿 *CervusnipponTemminck* 的雄鹿头上未骨化密生茸毛的幼角，始载于汉代的《神农本草经》，具有壮肾阳、益精血、调充任的功效，用于肾阳不足、经血亏虚、阳痿滑精、宫冷不孕、眩晕耳鸣、耳聋等[5]。据我国古籍记载：“壮骨”为鹿茸的最主要功效[6]。中医临床研究显示，作为补肾中药的鹿茸可以促进骨形成和骨量增加，提升骨密度，从而达到治疗骨质疏松的目的[7-8]。鹿血有养血益精、活血祛瘀的功效[9]和治疗骨质疏松的作用，据研究，鹿血可以增加去卵巢骨质疏松型大鼠的椎骨与股骨的强度，修复破坏的骨小梁。煅牡蛎由牡蛎加工炮制而成，两者均有抗骨质疏松的效果[10-11]。

本研究取鹿茸上段为君药，鹿血为臣，牡蛎为佐，在复方组成上不同于以往的研究。对 3 月龄 Wistar 雌性大鼠切除卵巢可以手术构建绝经后骨质疏松模型动物，给药 12 周后，通过检测大鼠体质量、子宫质量、血清指标、骨质量、骨钙含量、骨磷含量、骨组织染色和骨小梁面积等指标评估鹿茸复方对大鼠骨质疏松模型的防治作用，为中药复方治疗骨质疏松的研究提供理论参考。

## 1　材料

### 1.1 动物

SPF 级 Wistar 雌性大鼠，3 月龄未经产，32 只，体质量为(260 ± 20)g，购于辽宁长生生物技术有限公司，许可证号为 SCXK(辽)2015-0001，饲养温度为(22 ± 3)℃，湿度 50% ~75%，自然光源，标准营养颗粒饲料喂养(购自辽宁长生生物技术有限公司)，自由饮水，适应性饲养一周后用于实验。

### 1.2 药材

鹿茸为采集新鲜梅花鹿茸，按照 NY/T 1162-2006 中描述的方法，将鹿茸的蜡片和粉片取出作为上段，处理后粉碎。鹿血为采集梅花鹿新鲜血液，按照 DB21/T 1465-2006 描述的方法，将鹿血制成粉末。煅牡蛎购于康美药业有限公司(批号：170901611)。鹿茸经中国农业科学院特产研究所孙红梅博士鉴定为梅花鹿 *C. Temminck* 三杈茸；鹿血为梅花鹿 *C. Temminck* 膛血；煅牡蛎购于康美药业有限公司(批号：170901611)，为牡蛎科动物大连湾牡蛎 *Ostrea talienwhanensis*。

### 1.3 试剂与器材

1.3.1 试剂　青霉素注射液、链霉素注射液(哈药集团兽药有限公司)，4% 多聚甲醛、10% 水合氯醛(诺和诺德公司)，羧甲基纤维素钠(CMC-Na)，$\beta$-雌二醇，EDTA，钒钼酸，EDTA-Na2(长春华益生物科技

有限公司)，乙醇(国药集团化学试剂有限公司)，二甲苯(北京化工厂)，苏木精染液、伊红染液(天津市光复精细化工研究所)，碱性磷酸酶(ALP)、骨钙素(BGP)、甲状旁腺激素(PTH)、降钙素(CT)的 ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)，硝酸、浓盐酸、浓硫酸(国药集团)，钙离子标准溶液、磷离子标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心)。

1.3.2 仪器　BFM-6BI 型贝利微粉机(济南倍力粉技术工程有限公司)，BSA224S 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)，SCMF-3000 自动灰(挥发)分仪(长春实诚科技有限公司)，BSA8201 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)，SDW-1 型微机控制三点弯曲试验机(济南时代新光仪器有限公司)，火焰光度计 6400A(上海傲谱分析仪器有限公司)，5810R 型离心机(凯特实验仪器有限公司)，2255 型 LEICA 切片机(德国徕卡公司)，1150 H 型 LEICA 包埋机(德国徕卡公司)，90i 正置荧光显微镜(尼康公司)。

## 2　方法

### 2.1 动物模型建立

用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉(3 $mL \cdot kg^{-1}$)，麻醉后仰卧固定，于最末肋骨下，距脊椎柱外侧约 2 cm 处去毛，先后用碘伏和 75% 乙醇消毒，纵行切开皮肤约 2 cm，剥离肌肉组织，结扎两侧输卵管，摘除两侧卵巢，将子宫角送回腹腔中，注入双抗(40 万 $U \cdot kg^{-1}$)，缝合切口，75% 乙醇擦拭消毒。再取同批次大鼠 8 只，将大鼠用 10% 水合氯醛麻醉，麻醉后仰卧固定，在最末肋骨下，距脊椎柱外侧约 2 cm 处去毛消毒，纵行切开皮肤约 2 cm 后缝合，75% 乙醇擦拭消毒。

### 2.2 分组与给药

将去卵巢大鼠随机分为 3 组，分别为模型组(OVX)，雌激素组(E2)，复方组(F)；没去卵巢的为对照组(Sham)，每组 8 只。根据《药理实验方法学》中“人和动物按体表面积折算的等效剂量比值表”进行给药剂量计算，Wistar 大鼠给药剂量为人的 6.3 倍。鹿茸根据《中华人民共和国药典》给人的剂量为每天 2 $g \cdot (60kg)^{-1}$，给大鼠的剂量为每天 0.21 $g \cdot kg^{-1}$，复方(鹿茸-鹿血-牡蛎比例为 4∶1∶1)给药总量为每天 0.315 $g \cdot kg^{-1}$。

Sham 组：CMC-Na 与蒸馏水配制成质量分数为 0.5%，以 1 $mL \cdot d^{-1}$ 的剂量给大鼠灌胃，给药 12 周。

OVX 组：CMC-Na 与蒸馏水配制成质量分数为 0.5%，以 1 $mL \cdot d^{-1}$ 的剂量给大鼠灌胃，给药 12 周。

E2 组：$\beta$-雌二醇以 0.5% CMC-Na 作为溶剂制成混悬液，以每天 2.5 $\mu g \cdot kg^{-1}$ 的剂量给大鼠灌胃，给药 12 周。

F 组：鹿茸复方以 0.5% CMC-Na 作为溶剂制成混悬液，以每天 0.315 $g \cdot kg^{-1}$ 的剂量给大鼠灌胃，给药 12 周。

### 2.3 大鼠各生理样本的收集与处理

2.3.1 血液　将大鼠麻醉后固定，心脏取血。将全血分别转移至带标记离心管中，4 ℃静置 30 min 后，以 4000 $r \cdot min^{-1}$，4 ℃离心 15 min，移液器吸取上层血清分装于 1.5 mL 离心管，放入 −80 ℃中，避免反复冻融。用 ELISA 试剂盒检测血清 ALP、BGP、PTH 和 CT 水平，原子吸收法测定血清 Ca 和血清 P 的含量，委托上海双赢生物科技有限公司检测。

2.3.2 子宫与骨骼　大鼠经心脏抽血至死亡后，仰卧固定，纵行切开腹部皮肤取出两侧子宫放入 PBS 中清洗至无血，滤纸吸干水分，称质量。沿着大鼠关节解剖取下其左侧和右侧股骨剔净附着的肌肉及结缔组织，左侧股骨 65 ℃恒温箱中烘干备用，右侧股骨置于 4% 的多聚甲醛中固定、备用。

2.3.3 骨钙和骨磷检测　取左侧股骨，65 ℃恒温箱中烘干，称质量，分装于坩埚中，碳化至不冒黑烟为止，550 ℃马弗炉高温灰化 4 h，灰化后取出，干燥器中冷却至室温后称质量，计算灰分。每个样品加入 10 mL 盐酸(6 $mol \cdot L^{-1}$)加热溶解样品，转移至 100 mL 容量瓶中，蒸馏水定容至刻度。取 2 mL 样品溶液至三角瓶中，依次加入蒸馏水 50 mL、淀粉 10 mL(1 $g \cdot L^{-1}$)、三乙醇胺 2 mL、乙二胺 1 mL 混匀后，加入孔雀绿一滴，盐酸羟胺少许，混匀后，加入氢氧化钾 10 mL(200 $g \cdot L^{-1}$)，混匀后加少许钙黄素指示剂，混匀后待测样品呈绿色，进行 EDTA 滴定，读取刻度后计算骨钙浓度。从 100 mL 容量瓶取 1 mL 样品至 50 mL 容量瓶中，加入 10 mL 钒钼酸铵，混匀 20 min 后蒸馏水定容至刻度，混匀，每个样取 300 μL 至 96 孔板中，全自动酶标仪 450 nm 的波长下检测吸光值，计算骨磷的浓度。

2.3.4 HE 染色　取小鼠右侧股骨组织，经 4% 多聚甲醛固定，EDTA-Na2 溶液脱钙 21 d，取股骨远端 1/3 处干骺端纵切，自来水水洗过夜，乙醇逐级脱

水，二甲苯透明，石蜡包埋，切片厚度为 5 μm，于 64 ℃恒温烘箱烤片 3 h 左右，苏木精-伊红染液染色，透明 2 次后中性树胶封片。光学显微镜下(4 × 10)观察各组小鼠股骨组织片 HE 染色情况，并用 Image Pro Plus 6.0 软件手动对大鼠股骨组织切片面积进行计算，每组选取 4 张切片，每张切片 40 倍视野下随机选取 2 个视野，每组共 8 个视野，计算 40 倍视野下骨小梁面积所占总面积比值。

### 2.4 数据处理

实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示，多组之间比较采用 One-way ANOVA 检验进行分析，数据资料应用 Graph Pad Prism 5 软件进行分析，$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3　结果

### 3.1 体质量

与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的体质量增长率明显升高($P < 0.01$)；与 OVX 组比较，E2 组大鼠体质量增长率无明显变化，F 组大鼠体质量增长率明显降低($P < 0.05$)；与 E2 组比较，F 组大鼠体质量增长率无明显变化，见表 1。

**表 1　各组大鼠实验前后体质量变化**($\bar{x} \pm s$，$n = 8$)

| 组别 | 给药前/g | 给药后/g | 增长率/% |
|---|---|---|---|
| Sham | 269.6 ± 17.18 | 345.11 ± 10.48 | 75.51 ± 10.08 |
| OVX | 274.09 ± 21.61 | 366.34 ± 23.75 | 92.25 ± 9.29 ** |
| E2 | 259.95 ± 21.33 | 340.48 ± 20.68 | 80.52 ± 6.1 |
| F | 275.55 ± 9.82 | 354.38 ± 16.47 | 78.83 ± 11.02 # |

注：与 Sham 组比较，** $P < 0.001$；与 OVX 组比较，# $P < 0.05$。

### 3.2 大鼠子宫质量与脏器指数

与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的子宫质量明显降低($P < 0.001$)；与 OVX 组比较，E2 组大鼠子宫质量明显升高($P < 0.001$)，而 F 组大鼠子宫质量没有明显变化；与 E2 组比较，F 组大鼠子宫质量明显降低($P < 0.001$)，子宫脏器指数同子宫质量，见表 2。

**表 2　各组大鼠子宫脏器指数**($\bar{x} \pm s$，$n = 8$)

| 组别 | 大鼠体质量/g | 子宫质量/g | 脏器指数/% |
|---|---|---|---|
| Sham | 345.11 ± 10.48 | 1.09 ± 0.13 | 0.32 ± 0.04 |
| OVX | 366.34 ± 23.75 | 0.14 ± 0.06 *** | 0.04 ± 0.02 *** |
| E2 | 340.48 ± 20.68 | 0.98 ± 0.21 ### | 0.29 ± 0.08 ### |
| F | 354.38 ± 16.47 | 0.15 ± 0.03 ***△△△ | 0.04 ± 0.01 ***△△△ |

注：与 Sham 组比较，*** $P < 0.001$；与 OVX 组比较，### $P < 0.001$；与 E2 组比较，△△△ $P < 0.001$。

### 3.3 血清指标

3.3.1 血清 ALP 和 BGP 含量　与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的血清 ALP 含量明显升高($P < 0.01$)；与 OVX 组比较，E2 组和 F 组大鼠血清 ALP 含量没有明显变化；与 E2 组比较，F 组大鼠血清 ALP 含量没有明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的血清 BGP 含量明显升高($P < 0.001$)；与 OVX 组比较，E2 组和 F 组大鼠血清 BGP 含量均明显降低($P < 0.001$)；与 E2 组比较，F 组大鼠血清 BGP 含量没有明显变化，见表 3。

**表 3　各组大鼠血清 ALP 和 BGP 指标**($\bar{x} \pm s$，$n = 8$)　ng·mL$^{-1}$

| 组别 | ALP | BGP |
|---|---|---|
| Sham | 0.23 ± 0.02 | 0.76 ± 0.09 |
| OVX | 0.28 ± 0.02 ** | 1.07 ± 0.03 *** |
| E2 | 0.26 ± 0.03 | 0.82 ± 0.12 ### |
| F | 0.25 ± 0.03 | 0.77 ± 0.11 ### |

注：与 Sham 组比较，** $P < 0.01$，*** $P < 0.001$；与 OVX 组比较，### $P < 0.001$。

3.3.2 血清 PTH 和 CT 含量　与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的血清 PTH 含量明显升高($P < 0.001$)；与 OVX 组比较，E2 组($P < 0.05$)和 F 组($P < 0.01$)大鼠血清 PTH 含量均显著降低；与 E2 组比较，F 组大鼠血清 PTH 含量无明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠的血清 CT 显著降低($P < 0.01$)；与 OVX 组比较，E2 组和 F 组大鼠的血清 CT 含量均无明显变化；与 E2 组比较，F 组大鼠血清 CT 含量无明显变化，见表 4。

**表 4　各组大鼠血清 PTH 和 CT 指标**($\bar{x} \pm s$，$n = 8$)　ng·mL$^{-1}$

| 组别 | PTH | CT |
|---|---|---|
| Sham | 0.14 ± 0.01 | 0.56 ± 0.06 |
| OVX | 0.18 ± 0.02 *** | 0.46 ± 0.03 ** |
| E2 | 0.16 ± 0.02 # | 0.48 ± 0.04 * |
| F | 0.15 ± 0.02 ## | 0.47 ± 0.08 * |

注：与 Sham 组比较，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$，*** $P < 0.001$；与 OVX 组比较，# $P < 0.05$，## $P < 0.01$。

3.3.3 血清 Ca 和 P 含量　与 Sham 组比较，OVX 组大鼠血清 Ca 含量明显降低($P < 0.05$)；与 OVX 组比较，E2 组和 F 组大鼠血清 Ca 含量没有明显变化；与 E2 组比较，F 组大鼠血清 Ca 含量没有明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠血清 P 含量显著升高($P < 0.05$)；与 OVX 组比较，E2 组($P < 0.05$)和 F

组($P<0.01$)大鼠血清 PTH 含量均显著降低；与 E2 组比较，F 组大鼠血清 P 含量没有明显变化，见表 5。

**表 5　各组大鼠血清 Ca 和 P 指标**($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

mg·mL$^{-1}$

| 组别 | Ca | P |
|---|---|---|
| Sham | 3.08 ± 0.63 | 0.72 ± 0.08 |
| OVX | 2.29 ± 0.46 * | 0.85 ± 0.11 * |
| E2 | 2.81 ± 0.55 | 0.73 ± 0.07 # |
| F | 3 ± 0.45 | 0.71 ± 0.07 ## |

注：与 Sham 组比较，* $P<0.05$；与 OVX 组比较，# $P<0.05$，## $P<0.01$。

### 3.4 大鼠股骨质量与骨矿含量

与 Sham 组比较，OVX 组大鼠股骨湿质量明显降低($P<0.01$)；与 OVX 组比较，E2 组和 F 组大鼠股骨湿质量没有明显变化；与 E2 组比较，F 组大鼠股骨湿质量无明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠股骨干质量明显降低($P<0.01$)；与 OVX 组比较，E2 组和 F 组大鼠股骨干质量没有明显变化；与 E2 组比较，F 组大鼠股骨干质量无明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠股骨灰分含量明显降低($P<0.01$)；与 OVX 组比较，E2 组大鼠股骨灰分含量没有明显变化，F 组大鼠股骨灰分含量显著升高($P<0.05$)；与 E2 组比较，F 组大鼠股骨灰分含量无明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠股骨骨钙含量明显降低($P<0.001$)；与 OVX 组比较，E2 组($P<0.05$)和 F 组($P<0.001$)大鼠股骨骨钙含量均显著升高；与 E2 组比较，F 组大鼠股骨骨钙含量无明显变化。与 Sham 组比较，OVX 组大鼠股骨骨磷含量明显降低($P<0.001$)；与 OVX 组比较，E2 组($P<0.001$)和 F 组($P<0.001$)大鼠股骨骨磷含量均明显升高；与 E2 组比较，F 组大鼠股骨骨磷含量无明显变化，见表 6。

### 3.5 骨组织形态学检测和骨小梁面积比值

与 Sham 组比较，OVX 组大鼠骨小梁数目减少，间隙变大，骨小梁断裂不相连接，结构不完整，呈典型的骨质疏松样，并且骨小梁面积显著降低($P<0.001$)；与 OVX 组比较，E2 组大鼠骨小梁数目较多，排列较紧密，连接成网状，并且骨小梁面积显著升高($P<0.001$)；F 组大鼠骨小梁排列较紧密，连接程度较高，骨小梁面积显著升高($P<0.001$)；与 E2 组比较，F 组骨小梁间隙、结构和面积均无明显变化，见图 1 和图 2。

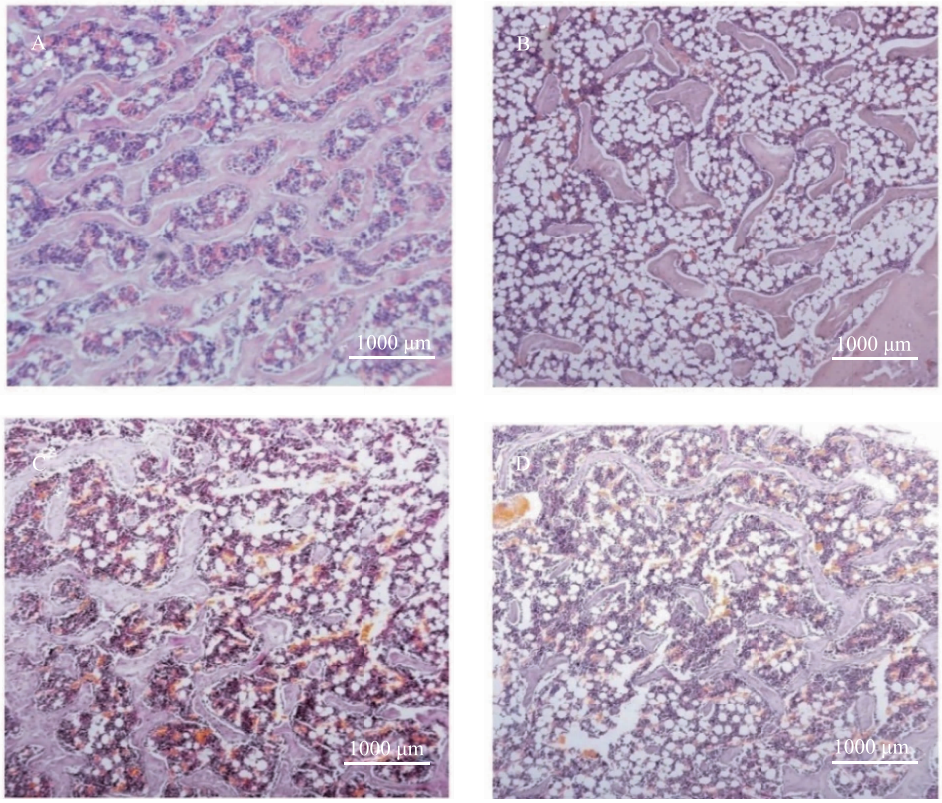
## 4　讨论

雌激素在机体内参与骨代谢，有促进前体细胞向成骨细胞分化并减少脂肪细胞的生成，促进骨形成、抑制骨吸收等作用[12-13]，雌激素匮乏会导致机体骨代谢异常，骨转换率升高、骨形成减弱、骨吸收增强、骨质流失致使骨质发生疏松[14]。ALP 和 BGP 在矿化过程中起着重要作用，是骨转换率的重要指标[15-17]。PTH 对骨代谢有双向调节作用，高剂量有促进骨吸收、低剂量有促进骨形成的作用[18-19]，CT 的主要作用是抑制骨吸收[20]。血清 PTH 和 CT 含量还与机体内雌激素、血 Ca 和血 P 含量相关，雌激素缺乏、血清 Ca 含量降低、血清 P 含量升高时均会导致 PTH 分泌量增加、CT 分泌下降[21]。本实验采用去卵巢致大鼠骨质疏松模型，可以在骨代谢方面较好地模拟人类绝经后骨质疏松症状[22]。实验结果显示，与 Sham 组比较，OVX 组大鼠在去除卵巢后，子宫质量明显降低，体质量增长率增加，血清 ALP、BGP 和 PTH 含量均显著升高，但是血清 CT、骨质量、骨钙含量、骨磷含量和骨小梁完整性均显著降低，说明大鼠切除卵巢后，雌激素分泌减少导致子宫萎缩，前体细胞向成骨细胞分化减少，同时血清 Ca 含量降低、血清 P 含量升高，三者同时导致 PTH 分泌增加、CT 分泌减少，从而促进骨吸收，抑制骨形成，使大鼠骨钙和骨磷含量降低，骨矿物质流失显著升高，骨小梁完整性遭到破坏，骨质发生了疏松，造模成功。经过雌激素和鹿茸复方治疗之后，大鼠体质量增长率、骨转换率显著降低，血清 PTH 含量降低和 CT 含量升高，骨质量、骨钙和骨磷含量

**表 6　各组大鼠股骨湿质量、干质量、灰分、骨钙和骨磷指标**($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

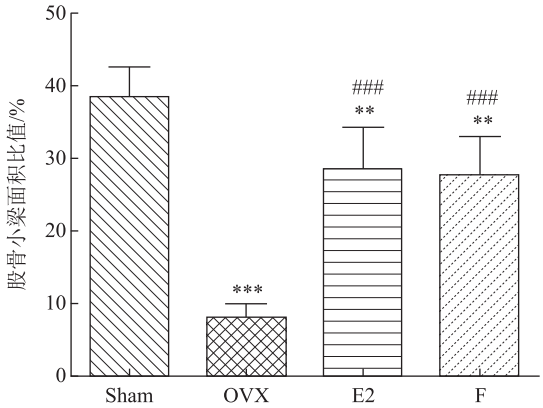
| 组别 | 湿质量/g | 干质量/g | 灰分/mg·g$^{-1}$ | 骨钙/mg·g$^{-1}$ | 骨磷/mg·g$^{-1}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Sham | 1.18 ± 0.03 | 0.83 ± 0.08 | 586.2 ± 14.4 | 212.3 ± 5.8 | 83.9 ± 2.3 |
| OVX | 1.06 ± 0.07 ** | 0.71 ± 0.07 ** | 542.1 ± 34.2 ** | 190.5 ± 5.6 *** | 60.3 ± 2.8 *** |
| E2 | 1.1 ± 0.06 | 0.74 ± 0.06 * | 562.8 ± 17.6 | 203.7 ± 8.8 # | 80.2 ± 8.7 ### |
| F | 1.13 ± 0.08 | 0.76 ± 0.05 | 577.8 ± 11.9 # | 211.4 ± 10.1 ### | 81.3 ± 6.3 ### |

注：与 Sham 组比较，* $P<0.05$，** $P<0.001$，*** $P<0.001$；与 OVX 组比较，# $P<0.05$，### $P<0.001$。




注：A. 假手术组；B. 模型组；C. 雌激素组；D. 复方组。

**图 1　大鼠股骨组织切片**(HE 染色，40 ×)




注：与 Sham 组比较，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与 OVX 组比较，$^{###}P<0.001$。

**图 2　各组大鼠股骨小梁面积比值**($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

和骨小梁完整性均有所升高，说明鹿茸复方和雌激素均可以减缓因雌激素缺乏导致的骨质疏松，并且两组间差异无统计学意义。与雌激素不同，鹿茸复方对大鼠子宫萎缩没有明显的抑制作用，但是雌性激素在治疗绝经期后骨质疏松方面副作用较大，长期服用会有引发乳房肿痛、阴道出血、促凝血倾向及可能增加乳腺癌发生率的风险[23]。鉴于本研究结果，我们推测，临床上通过鹿茸组方来部分或者全部代替雌性激素，有可能在保证良好治疗效果的同时，在一定程度上降低治疗的不良反应。

## 参考文献

[1]　张莲，郭峰，冯霞. 中医药防治老年骨质疏松研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志，2014，20(8)：982-984.

[2]　张智海，刘忠厚，李娜，等. 中国人骨质疏松症诊断标准专家共识[J]. 中国骨质疏松杂志，2014，20(9)：1007-1010.

[3]　马少华，马勇. 中药治疗原发性骨质疏松症效应机制研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志，2014，20(12)：1490-1494.

[4]　吴海洋，索欢，王平. 绝经后骨质疏松症的临床中药治疗进展[J]. 中国骨质疏松杂志，2015，21(2)：241-244.

[5]　国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015：323-324.

[6]　吴菲菲，金礼吉，李晓宇，等. 鹿茸活性成分及其药理功能的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医，2012(3)：32-34.

[7]　段冷昕，马吉胜，翁梁，等. 鹿茸总多肽对维 A 酸致骨质疏松大鼠的防治作用[J]. 中国药学杂志，2007，42(4)：264-267.

[8]　秦路平，张巧艳，辛海量. 补肾中药在临床抗骨质疏松症

中的应用及其现代研究[C]//中华中医药学会. 转化医学与中药现代化高峰论坛论文集. 杭州:中华中医药学会,2012:21.

[9] 王博. 不同鹿血对离体牛蛙心脏功能的影响[D]. 长春:吉林农业大学,2013.

[10] 杨茂伟,孟雪,郑洪新,等. 纳米钙补肾中药对激素诱导骨质疏松大鼠股骨生物力学及骨形态的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2008,16(12):30-32.

[11] 丁桂芝,周勇,李榕,等. 补肾健骨胶囊治疗老年性骨质疏松症 27 例[J]. 湖北中医杂志,1995,17(2):19-20.

[12] ZHANG Y,DONG X L,LEUNG P C,et al. Fructusligustrilucidi extract improves calcium balance and modulates the calciotropic hormone level and vitamin D-dependent gene expression in aged ovariectomized rats[J]. Menopause,2008,15(3):558-565.

[13] KHANIZADEH F,RAHMANI A,ASADOLLAHI K,et al. Combination therapy of curcumin and alendronate modulates bone turnover markers and enhances bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis[J]. Arch Endocrinol Metab,2018,62(4):438-445.

[14] 蔡玉霞,张剑宇. 补骨脂水煎剂对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢的影响[J]. 中国组织工程研究,2009,13(2):268-271.

[15] 汪树理,潘浦群,李晓红,等. 4 种东北梅花鹿茸片总糖与水溶性蛋白的分析[J]. 经济动物学报,2007,11(4):194-195.

[16] 王艳梅,杨保田,邹兴淮. 东北梅花鹿茸不同部位游离氨基酸含量的比较分析[J]. 吉林农业大学学报,2006,28(1):57-59.

[17] 师伟,高毅,徐丽,等. 鹿角补骨颗粒改善大鼠骨代谢及急性毒性检测的研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(8):1008-1011.

[18] FRIEDL G,TURNER R T,EVANSG L,et al. Intermittent parathyroid hormone(PTH)treatment and age-dependent effects on rat cancellous bone and mineralmetabolism[J]. J Orthop Res,2007,25(11):1454-1464.

[19] 张艺璇,李金源. 甲状旁腺激素治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘,2018,18(51):69-70,81.

[20] 张萌萌,李亚刚,马倩倩,等. 860 例女性 PTH、25(OH)$D_3$、CT、骨代谢标志物与 BMD 相关性[J]. 中国妇幼保健,2012,27(32):5054-5057.

[21] 沈霖,林燕平,王拥军. 骨伤科实验技术[D]. 北京:北京科学技术出版社,2010:186.

[22] 司会群,卜淑敏,赵俊勇,等. 全身垂直振动对去卵巢骨质疏松大鼠腰椎转录因子 Osterix 蛋白表达的影响[J]. 中国运动医学杂志,2015,34(4):353-357.

[23] 文天林,孙天胜,王玲. 骨质疏松症的药物治疗[J]. 人民军医,2010,53(9):666-668.

(收稿日期:2018-12-16　　编辑:王丽英)